Vestnik zoologii, **36**(5): 21–26, 2002

УДК 594.1.56.576:316.2

О ПОЛИПЛОИДИИ И АНЭУПЛОИДИИ КЛЕТОК У МОЛЛЮСКОВ СЕМЕЙСТВА ПЕРЛОВИЦЕВЫХ (BIVALVIA, UNIONIDAE) НА ТЕРРИТОРИИ УКРАИНЫ

Р. К. Мельниченко

Житомирский педагогический университет, ул. Б. Бердичевская, 40, Житомир, 10002 Украина

Получено 5 апреля 2000

О полиплоидии и анэуплоидии в клетках моллюсков семейства перловицевых (Bivalvia, Unionidae) на территории Украины. Мельниченко Р. К. — Обнаружены полиплоидия и другие цитогенетические нарушения в клетках тканей жабр и гонад у перловицевых из различных речных бассейнов Украины. Обсуждаются возможные причины этого явления.

Ключевые слова: моллюски, Unionidae, кариотип, полиплоидия, цитогенетические нарушения.

About Polyploidy and Aneuploidy in Cells of the Family Unionidae (Mollusca, Bivalvia) in the Area of Ukraine. Melnychenko R. K. — The polyploidy and other cytogenetic anomalies have been found in cells of the tissues of gills and gonads in Unionidae from different river basins of Ukraine. The possible causes of this phenomenon are discussed.

Key words: mollusks, Unionidae, karyotype, polyploidy, cytogenetic anomaly.

Введение

Полиплоидизация геномов особей или отдельных ядер — далеко не редкость среди моллюсков (Burch, Huber, 1966). В литературе имеется немало сведений о роли полиплоидии при межвидовой гибридизации как в природных условиях (Thiriot-Quievreux, 1984; Баршене, Петкявичюте, 1988), так и при экспериментальном скрещивании животных (Thiriot-Quievreux, 1984). Высокие хромосомные числа полиплоидных видов моллюсков, относящихся к родам *Bulinus* (Goldman, Lo Verde, 1983), *Benedictia* (Побережный и др., 1983), *Lasaea* (Thiriot-Quievreux et al., 1988) обусловлены, вероятно, эволюционной историей этих таксонов. Показано, что полиплоидные организмы обладают широким диапазоном экологической толерантности и лучше переносят физиологические стрессы. Тенденция к полиплоидизации генома наблюдается у особей, проживающих в зонах, подверженных воздействию ряда мутагенных факторов: радиационного и химического загрязнения, низких температур и т. д. (Баршене, Петкявичюте, 1988; Baršiene et al., 1996; Манило, 2000 и др.).

У двустворчатых моллюсков семейства Unionidae полиплоидные клетки обнаружены у пяти диплоидных в норме видов: *Epioblasma triqueta*, *Ptichobranchus fasciolaris* (Park, Burch, 1995), *Unio tumidus*, *U. pictorum*, *Crassiana crassa* (Баршене, Петкявичюте, 1988).

Привлекает внимание исследователей и явление анэуплоидии, характерное для многих групп животных. Так, Л. С. Немцова (1970) отмечает, что гипо- и гиперплоидные клетки характерны для тканей, наиболее подверженных влиянию окружающей среды (например, для тканей жабр). Некоторые исследователи (Крысанов, 1987 и др.) связывают частоту анэуплоидных клеток в организме с показателем совершенства гомеостаза, изменяющегося в процессе онтогенеза, при болезнях и патологиях, под действием мутагенов.

Информативным методом изучения мутагенного действия окружающей среды на организм является учет цитогенетических нарушений в половых и соматических клетках (Немцова, 1970; Гилева, 1997). При изучении кариотипов перловицевых фауны Украины нами также зарегистрированы полиплоидия и другие цитогенетические нарушения, что и стало предметом настоящего сообщения.

Материал и методы

Материалом послужили собственные сборы 1996–2000 гг. в бассейнах Припяти, Среднего Днепра (левые и правые притоки), Северского Донца, Верхнего Днестра, Западного Буга, Сана. При этом для исследования кариотипов использованы 264 экз. перловицевых, принадлежащих к 16 видам, объединенных в 5 родов из 34 пунктов сбора (Мельниченко, 2001).

Материал собран в мае–сентябре, вручную. Препараты хромосом изготавливали из тканей жабр и гонад методом раскапывания по общепринятым методикам (Макгрегор, Варли, 1986), несколько

модифицированным нами (Мельниченко, 2000, 2001). Накопление клеток на стадии метафазы достигалось путем инъекции 0,02–0,05%-ного раствора колхицина в мышцы ноги на 17–20 часов. Окрашивание препаратов производили 6%-ным раствором азур-эозина по Романовскому.

Удельную радиоактивность донных отложений в местах сбора материала измеряли в лаборатории радиоэкологии Житомирской государственной агроэкологической академии. Использовали прибор «Becquerel-monitor Bertold» в режиме точности 3%. Для оценки связи между радиоактивностью донных отложений и основными цитогенетическими нарушениями использован коэффициент ранговой корреляции Спирмена (R_s), достоверность определяли по t-критерию Стьюдента (Лакин, 1990).

Результаты

Известно (Мельниченко, 2000, 2001; Мельниченко, Янович, 2000 и др.), что хромосомные наборы популяций перловицевых с территории Украины включают 19 пар двуплечих хромосом (n = 19, 2n = 38, NF = 76), равномерно убывающих по длине. В митотических клетках У унионид из 22 местонахождений была выявлена фрагментация хромосом, гипо-, гипер- и полиплоидные метафазные пластинки (рис. 1–5). Упомянутые абберации чаще всего регистрировались на микропрепаратах семенников (рис. 3–5), иногда — жабер (рис. 1, 2), в отдельных случаях — яичников. В мейозе сперматоцитов на стадии диакинеза также встречались пластинки с поли- и анэуплоидным хромосомным набором (рис. 6, 7).

Процент полиплоидных клеток у отдельной особи колеблется в пределах 1–43% в разных популяциях, причем часто наблюдалась смешанная полиплоидизация, при которой у одного и того же моллюска фиксировались пластинки с три-, пента-, гекса- и октаплоидным набором хромосом (рис. 1, 2). В мейозе частота таких нарушений была ниже, от 0,5 до 10%, но не превышала 17%. Еще реже фиксировались пластинки с гиперплоидным кариотипом и фрагментациями хромосом (частота 0,25–13%).

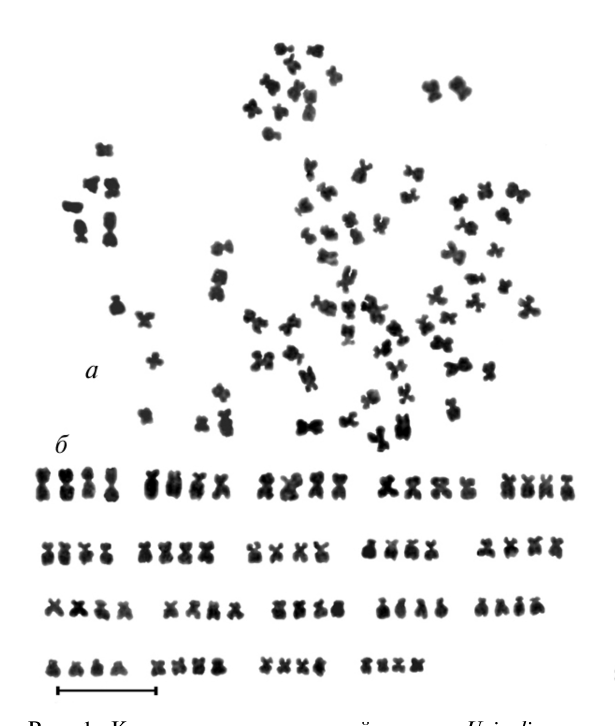


Рис. 1. Кариотип тетраплоидной клетки *Unio limosus graniger* из р. Уж (жабры): *а* — митотическая метафаза, 4n = 76; *б* — кариотип. Здесь и далее масштабная линейка 10 мкм.

Fig. 1. Karyotype of a tetraploid cell of *Unio limosus graniger* from the river Uzh (gills): *a* — mitotic metaphase, 4n = 76; *б* — karyotype. Here and below scale bar is 10 μm.

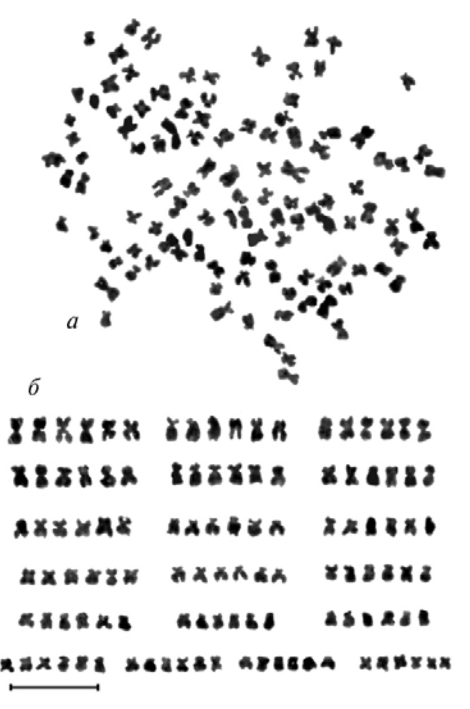


Рис. 2. Кариотип гексаплоидной клетки *U. limosus* из р. Уж (жабры): *а* — митотическая метафаза, 6n = 114; *б* — кариотип.

Fig. 2. Karyotype of a hexaploid cell of *U. limosus* from the river Uzh (gills): *a* — mitotic metaphase, 6n = 114; *б* — karyotype.

Таблица 1. Средняя частота хромосомных нарушений у моллюсков семейства Unionidae из различных популяций Украины

Table 1. Mean frequency of cytogenetic anomalies in populations of mollusks of the family Unionidae from the different regions of Ukraine

Место сбора	β-радиоактивность донных отложений, Бк/кг	Количество животных, экз.	Количество метафазных клеток	Средняя частота клеток, %:				
				с аберрациями хромосом	гипоплоидных	гиперплоидных	полиплоидных	с нарушениями мейоза
р. Тетерев, Житомир	53	26	396	0,25	15,91	1,26	16,16	0,76
р. Тетерев, Тетеревка (Ж)	138	20	305	1,64	18,36	1,64	0,66	—
р. Лесная, Бондарцы (Ж)	178	22	214	1,87	13,55	2,34	23,84	0,47
р. Гуйва, Довжик (Ж)	42	5	49	—	14,29	—	4,08	—
Силикатный карьер, Житомир	97	15	196	2,59	17,11	—	6,74	10,88
р. Уж, Ушомир (Ж)	121	24	188	—	19,68	2,13	5,32	0,53
р. Уж, Белка (Ж)	254	20	273	1,10	19,41	0,73	20,88	1,10
р. Уборть, Кишин (Ж)	144	13	66	4,55	21,21	1,52	6,06	3,03
р. Уборть, Олевск (Ж)	112	9	45	—	22,22	—	—	—
р. Жерев, Повч (Ж)	368	6	139	—	8,51	12,90	33,78	26,62
р. Случ, Нов.-Волынский (Ж)	106	5	55	3,64	3,64	1,82	25,45	5,45
р. Церем, Пилиповичи (Ж)	89	10	122	0,82	5,74	4,10	18,85	—
бас. р. Гнилопять, Гришковцы (Ж)	268	9	193	1,02	10,71	8,67	26,02	1,02
р. Рось, Белая Церковь (К)	153	19	272	1,10	16,54	3,67	3,68	3,31
р. Протока, Б. Церковь (К)	93	9	57	3,51	10,53	1,75	21,05	—
р. Иква, Млинов (Р)	32	7	14	1,12	13,95	—	—	—
р. Ю. Буг, Винница	1532	6	86	1,16	4,65	2,32	20,93	1,16
р. Вишня, С. Вишня (Л)	~0	4	21	—	14,29	—	—	—
р. Верещица, Черляни (Л)	~0	3	34	2,94	14,71	—	2,94	—
р. Уды, Н. Бавария (Х)	~0	10	60	10,00	18,33	1,67	6,67	—
р. Коломак, Полтава	~0	9	45	—	11,11	2,22	8,89	—

Условные обозначения: К — Киевская, Ж — Житомирская, Р — Ровенская, Х — Харьковская, Л — Львовская области.

Сводные данные о частоте цитогенетических нарушений в клетках перловицевых в каждом пункте сбора (без учета индивидуальной изменчивости и видовой принадлежности) представлены в таблице 1.

Обсуждение

Результаты наших исследований можно интерпретировать двояко. Во-первых, одной из причин, вызывающей, на наш взгляд, появление полиплоидных клеток именно в семенниках моллюсков (на препаратах из этих тканей их количество максимально), является особенность протекания у них сперматогенеза. У *Unio* Philipsson, 1788 и *Anodonta* Lamark, 1799 наблюдали сложную картину развития сперматогенных клеток, при которой наряду с типичным сперматогенезом наблюдается атипичный, в процессе которого образуются массы клеток, часто соединенные в многоклеточные шары (Строганова, 1963; Янович, Стадниченко, 1996). У *Unio* происходит значительное наложение обоих типов развития друг на друга в летний период. Кроме того, среди сперматогоний встречаются клетки с фрагментированными ядрами, в которых нарушены процессы митоза (Строганова, 1963). Названный автор отмечает, что полиплоидизация, элиминация и дегенерация хромосом, образование многоядерных клеток сопровождают образование атипичных сперматозоидов, не принимающих участие в оплодотворении.



Рис. 3. Кариотип тетраплоидной клетки *Unio rostratus rostratus* из р. Лесная (семенники): *а* — митотическая метафаза, 4n = 76; *б* — кариотип.

Fig. 3. Karyotype of a tetraploid cell of *Unio rostratus rostratus* from the river Lesnaya (male gonad): *а* — mitotic metaphase, 4n = 76; *б* — karyotype.



Рис. 4. Кариотип гиперплоидной клетки *Anodonta cygnea* из пруда в бассейне р. Гнилопять (семенники): *а* — митотическая метафаза, 2n = 42; *б* — кариотип.

Fig. 4. Karyotype of a hyperploidy cell of *Anodonta cygnea* from the pond in the basin of the river Gnylopyat (male gonad): *а* — mitotic metaphase, 2n = 42; *б* — karyotype.



Рис. 5. Фрагментация хромосомы в кариотипе *Colletopterum piscinale falcatum* из песчаного карьера в бассейне р. Тетерев (семенники): *а* — митотическая метафаза, 2n = 38; *б* — кариотип.

Fig. 5. Fragmentation of the chromosome in the karyotype of *Colletopterum piscinale falcatum* from the sandpit in the basin of the river Teterev (male gonad): *а* — mitotic metaphase, 2n = 38; *б* — karyotype.

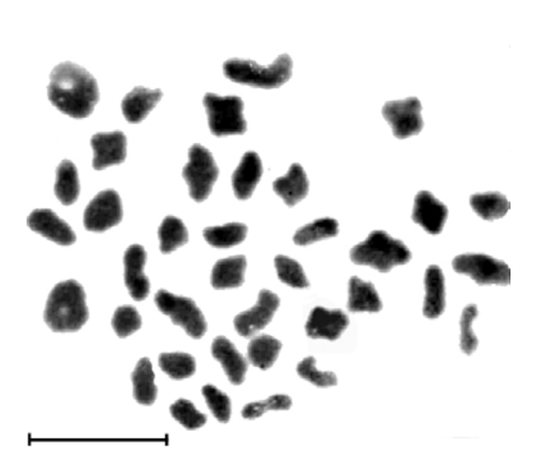


Рис. 6. Кариотип тетраплоидной клетки *Pseudanodonta complanata* из р. Жерев, диакинез мейоза, n = 38 (семенники).

Fig. 6. Karyotype of a tetraploid cell of *Pseudanodonta complanata* from the river Zherev, diakinesis of meiotic chromosomes, n = 38 (male gonad).

Другой причиной, обуславливающей хромосомные аномалии и полиплоидизацию наборов отдельных клеток может быть воздействие различных мутагенных факторов среды. В нашем случае таким фактором могло быть загрязнение рек радионуклидами или промышленными стоками. Литовские авто-

ры (Баршене, Петкявичюте, 1988) также отмечают повышенное содержание полиплоидных и анэуплоидных клеток у моллюсков, обитающих в холодной зоне водоема-охладителя Литовской ГРЭС, загрязненной различными токсикантами, привносимыми рекой Стрева.

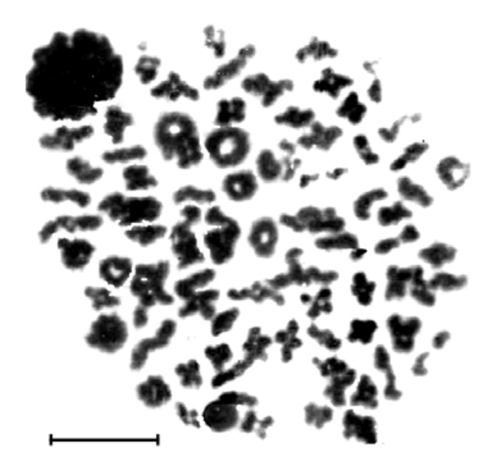


Рис. 7. Кариотип полиплоидной клетки *Colletopterum piscinale* из р. Рось, диакинез мейоза, n > 100 (семенники).

Fig. 7. Karyotype of a polyploid cell of *Colletopterum piscinale* from the river Ros, diakinesis of meiotic chromosomes, n > 100 (male gonad).

Поскольку сборы материала велись и на территориях, пострадавших в результате аварии на ЧАЭС, мы проводили анализ донных отложений каждого пункта сбора на суммарную β-радиоактивность (табл. 1). Для оценки связи между радиоактивностью донных отложений и основными цитогенетическими нарушениями использован коэффициент ранговой корреляции Спирмена (R_s) в пределах каждого рода и всего семейства (табл. 2).

В большинстве случаев значения R_s не превосходят критическую точку t_{st} на уровне значимости α = 5%, что свидетельствует о том, что вклад радиоактивности в мутагенный потенциал среды не является определяющим. Однако для рода *Colletopterum* Bourguignat, 1880, исследуемого кариологически из 12 местонахождений, высокая достоверная корреляция выявлена между радиоактивностью и частотой хромосомных абберации (делеций, разрывов, фрагментаций), а также гиперплоидии; для *Anodonta* из 6 пунктов сбора — между радиоактивностью и частотой гиперплоидии и нарушений мейоза (табл. 2). Для *Batavusiana* Bourguignat in Locard, 1898 и *Pseudanodonta* Bourguignat, 1876 получены высокие как положительные, так и отрицательные значения R_s (табл. 2), что связано, вероятно, с относительно небольшим объемом материала по этим родам, недостаточного для статистических обобщений. Если взять за основу частоты цитогенетических нарушений у всех перловицевых в каждом пункте сбора (без учета таксономической принадлежности) (табл. 1), то, несмотря на некоторую долю условности анализа, средняя достоверная корреляция (R_s = 0,49–0,64) выявлена между частотой клеток гипер-, полиплоидных, нарушениями в мейозе и радиоактивностью донных отложений в местообитаниях моллюсков (табл. 2). Достоверной связи между гипоплоидией и радиоактивностью не выявлено.

Таблица 2. Коэффициенты ранговой корреляции (R_s) между радиоактивностью донных отложений и цитогенетическими нарушениями у перловицевых

Table 2. Coefficient of rank correlation between radio-activity of the beds and cytogenetic anomaly of Unionidae

Моллюск	Цитогенетические нарушения в клетках				
	Абберации хромосом	Гипоплоидия	Гиперплоидия	Полиплоидия	Нарушения мейоза
Batavusiana	**–0,78**	**–0,78**	0,21	**0,78**	**0,78**
Unio	0,08	0,22	0,03	0,40	0,44
Pseudanodonta	0,50	**–0,78**	–0,40	0,40	0,40
Anodonta	–0,38	–0,58	**0,93**	0,53	**0,83**
Colletopterum	**0,72**	0,17	**0,69**	0,35	0,44
Unionidae	0,05	–0,06	**0,57**	**0,49**	**0,64**

Примечание. Достоверные значения R_s при α = 5% (0,01 < P < 0,05) выделены жирным шрифтом.

Выводы

Таким образом, для моллюсков семейства перловицевых характерны тенденции к смешанной полиплоидизации хромосомных наборов отдельных клеток, центромерных диссоциаций двуплечих хромосом и нарушений мейоза. Подобные нарушения происходят в кариотипах млекопитающих под действием различных мутагенов (Гилева, 1997 и др.). Конститутивных мутантов с полностью измененным кариотипом не выявлено.

На данном этапе исследования делать окончательные выводы о причинах полиплоидии и других цитогенетических нарушений в популяциях перловицевых преждевременно. Во-первых, отсутствуют сведения о генотоксическом эффекте региона. Необходимо выяснить уровень содержания некоторых органических веществ, ионов тяжелых металлов (т. е. веществ с мутагенными свойствами) в окружающей среде и теле моллюсков. Во-вторых, кариологическое исследование этих гидробионтов в Украине находится только на начальном этапе, поэтому количество материала для обобщений и окончательных выводов является недостаточным. В то же время, обнаруженные явления представляют несомненный интерес для понимания механизмов эволюции хромосомных наборов моллюсков, а также в перспективе могут оказаться пригодными для оценки состояния водных экосистем.

Баршене Я., Петкявичюте Р. Цитогенетические особенности унионид, обитающих в охладителе Литовской ГРЭС // Acta hydrobiol. Lituanica. — 1988. — № 7. — С. 11—24.

Гилева Э. А. Эколого-генетический мониторинг с помощью грызунов (уральский опыт). — Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 1997. — 105 с.

Крысанов Е. Д. Анэуплоидия и хромосомный мозаицизм у рыб : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 1987. — 23 с.

Лакин Г. Ф. Биометрия. — М. : Высш. шк., 1990. — 349 с.

Макгрегор Г., Варли Дж. Методы работы с хромосомами животных / Под ред. Н. Н. Воронцова. — М. : Мир, 1986. — 272 с.

Манило В. В. Поліплоїдія — екологічний сигнал? // Вісн. НАН України. — 2000. — № 5. — С. 52—53.

Мельниченко Р. К. Сравнительно-кариологический анализ двух видов рода Unio (Mollusca, Bivalvia, Unionidae) // Вестн. зоологии. — 2000. — **34**, № 1—2. — С. 85—88.

Мельниченко Р. К., Янович Л. Н. Биология размножения и особенности кариотипов видов рода Pseudanodonta (Mollusca, Bivalvia, Unionidae) фауны Украины // Вестн. зоологии. — 2000 а. — Supplement № 14. — С. 26—33.

Мельниченко Р. К. Порівняльно-каріологічна характеристика родини перлівницевих (Mollusca, Bivalvia, Unionidae) фауни України : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — К., 2001. — 20 с.

Немцова Л. С. Метафазный метод учета перестроек хромосом : Методическое руководство. — М. : Наука, 1970. — 125 с.

Побережный Е. С., Дзубан Т. А., Островская Р. М. Спонтанная полиплоидизация у байкальских моллюсков рода Benedictia (Gastropoda, Prosobranchia) // Моллюски: систематика, экология и закономерности распростр. — Л., 1983. — С. 67—68.

Строганова Н. С. Особенности сперматогенеза у некоторых двустворчатых моллюсков (Unio, Anodonta, Mya) // Вестн. Моск. ун-та. — 1963. — № 6. — С. 25—34.

Янович Л. Н., Стадниченко А. П. Репродуктивные циклы перловицевых Центрального Полесья // Вестн. зоологии. — 1996. — № 4—5. — С. 16—23.

Baršiene J., Tapia G., Baršyte D. Chromosomes of mollusks inhabiting some mountain springs of eastern Spain // J. Moll. Stud. — 1996. — N 62. — P. 539—543.

Burch J. B., Huber J. M. Polyploidy in mollusks // Malacol. Int. J. — 1966. — **5**. — P. 41—43.

Goldman M. A., Lo Verde Ph. T. Hybrid origin of poliploidy in fresh water snails of genus Bulinus (Mollusca, Planorbidae) // Evolution. — 1983. — **37**, N 3. — P. 592—600.

Park G.-M., Burch J. B. Karyotype analyses of six species of North American fresh-water mussels (Bivalvia, Unionidae) // Malacol. Rev. — 1995. — **28**. — P. 43—61.

Thiriot-Quievreux C. Chromosome analysis of three species of Mytilus (Bivalvia, Mytilidae) // Marine Biol. Letters. — 1984. — **5**. — P. 265—273.

Thiriot-Quievreux C., Soyer J., de Bovee F., Albert P. Unusual chromosome complement in the brooding bivalve Lasaea consanguinea // Genetica. — 1988. — **76**, N 2. — P. 143—151.